

## СЕКВЕНИРОВАНИЕ НОВОГО ПОКОЛЕНИЯ ПОМОГАЕТ В ДИФФЕРЕНЦИАЛЬНОМ ДИАГНОЗЕ ПАТОЛОГИЧЕСКОЙ ГИПЕРТРОФИИ МИОКАРДА ЛЕВОГО ЖЕЛУДОЧКА У ПРОФЕССИОНАЛЬНЫХ СПОРТСМЕНОВ

О.С. Чумакова<sup>1</sup>, М.Ю. Исаева<sup>2</sup>, М.И. Абушенко<sup>2</sup>, М.В. Воробьева<sup>2</sup>, Р.Р. Гусейнова<sup>2</sup>,  
Л.Э. Гасанова<sup>2</sup>, Г.И. Спешилова<sup>4</sup>, А.Г. Никитин<sup>2</sup>, А.В. Аверьянов<sup>3</sup>, Д.А. Затеищikov<sup>1</sup>

<sup>1</sup>ФГБУ ДПО «ЦГМА» УДП РФ

<sup>2</sup>ФГБУ ФНКЦ ФМБА России

<sup>3</sup>ФГБУ НИИ Пульмонологии ФМБА России

<sup>4</sup>Геномный центр ChromaSpark

Установление причины развития гипертрофии миокарда левого желудочка (ГЛЖ) в особенности у профессиональных спортсменов в ряде случаев может представлять сложности.

*Цель.* Оценить эффективность использования генетического анализа методом секвенирования нового поколения (next generation sequencing, NGS) в дифференциальной диагностике патологической ГЛЖ у профессиональных спортсменов.

*Материалы и методы.* Анализ данных эхокардиографического обследования 791 спортсмена выявил 15 человек с ГЛЖ > 12 мм (1,9%). На основании критериев патологичности ГЛЖ (асимметричная, выраженная, наличие изменений на электрокардиограмме) были отобраны 5 (0,6%) спортсменов, которым проведено NGS 174 генов, ассоциированных с заболеваниями сердца, на приборе Illumina MiSeq с использованием панели Illumina TruSight Cardio.

*Результаты.* У 3 из 5 спортсменов были выявлены патогенные варианты в генах MBPC3 и LMNA, ранее ассоциированные с ГКМП и другими КМП. У одного спортсмена с отрицательным генетическим анализом диагностирована тяжелая неконтролируемая артериальная гипертензия, которая, вероятно, является причиной ГЛЖ. У второго спортсмена ГЛЖ не подтвердилась при последующем МРТ исследовании.

*Заключение.* Асимметричную ГЛЖ у профессиональных спортсменов следует рассматривать, как патологию, требующую комплексной клинической оценки и обязательного проведения генетического анализа.

*Ключевые слова:* спортсмен, гипертрофия, секвенирование, ГКМП

### NEXT GENERATION SEQUENCING HELPS IN DIFFERENTIAL DIAGNOSIS OF PATHOLOGICAL LEFT VENTRICULAR HYPERTROPHY IN ELITE ATHLETES

O.S. Chumakova, M.Yu. Isaeva, M.I. Abushenko, M.V. Vorobieva, L.E. Guseinova, R.R. Gasanova,  
G.I. Speshilov, A.G. Nikitin, A.V. Averyanov, D.A. Zateyshchikov.

To detect the reason of left ventricular hypertrophy (LVH) may be difficult in some cases especially in elite athletes.

*Object.* To evaluate the efficiency of next generation sequencing (NGS) genetic test in differential diagnostics of pathological LVH in elite athletes.

*Material and methods.* Analysis of echocardiographic data from 791 elite athletes revealed 15 individuals with LVH > 12 mm (1,9%). Based on the criteria of abnormality (asymmetric, severe and changes on electrocardiogram) 5 (0,6%) athletes were selected for genetic test. TruSight Cardio panel ("Illumina") was used to identify variants of 174 genes with known associations to inherited cardiac conditions.

*Results.* In 3 out of 5 athletes the pathogenic variants in MBPC3 and LMNA genes previously associated with HCM and other CMs were found. One athlete with negative genetic test result had severe untreated arterial hypertension as a possible cause for LVH. The second athlete didn't have LVH in magnetic resonance imaging.

*Conclusions.* In elite athletes, the asymmetric LVH should be considered as pathological finding which requires comprehensive clinical evaluation and NGS genetic test.

*Key words:* athlete, hypertrophy, NGS, HCM

## Введение

Гипертрофию миокарда левого желудочка (ГЛЖ) можно назвать единым симптомом целого ряда патологических состояний, а также физиологической реакцией на систематические занятия спортом. Наиболее частыми заболеваниями, приводящими к появлению ГЛЖ, являются артериальная гипертензия (АГ) и гипертрофическая кардиомиопатия (ГКМП).

В популяции профессиональных спортсменов проблема дифференциального диагноза ГЛЖ особенно актуальна. Во-первых, из-за имеющейся у спортсменов физиологической ГЛЖ [1]. Во-вторых, среди причин внезапной смерти профессиональных спортсменов одно из лидирующих мест занимает ГКМП [2]. И в-третьих, распространенность АГ у спортсменов, особенно мужчин, силовых видов спорта достаточно высока и может приводить к развитию гипертонического сердца [3].

Основными «помощниками» в дифференциальном диагнозе физиологической и патологической ГЛЖ являются морфологические характеристики ЛЖ (выраженность и симметричность ГЛЖ) и наличие или отсутствие изменений на электрокардиограмме (ЭКГ). Физиологическая ГЛЖ характеризуется симметричностью, относительно небольшой выраженностью и отсутствием патологических изменений на ЭКГ. Асимметричная ГЛЖ, ГЛЖ  $\geq 15$  мм, сопутствующие нарушения реполяризации и/или патологические зубцы Q на ЭКГ [4], а также выявление родственников, больных ГКМП, будут свидетельствовать в пользу патологии. В большинстве случаев при правильной интерпретации вышеизложенных признаков клиническое проведение дифференциального диагноза между физиологической и патологической ГЛЖ у спортсмена не вызывает сложностей. Однако, может встать вопрос о генезе патологической ГЛЖ.

## Цель

Таким образом, целью исследования стала оценка эффективности использования генетического анализа методом секвенирования нового поколения (next generation sequencing, NGS) в дифференциальной диагностике патологической ГЛЖ у профессиональных спортсменов.

## Материалы и методы

Данные углубленного медицинского обследования (УМО) 791 профессионального спортсмена (средний возраст 22,4 года (15-56), 42% женщин, 21 вид спорта) были проанализиро-

ваны на предмет выявления ГЛЖ. УМО включало в себя обязательное проведение эхокардиографического (ЭХОКГ) и ЭКГ исследований, а также по показаниям суточное мониторирование артериального давления (СМАД), магнитно-резонансную томографию сердца (МРТ), стресс-ЭХОКГ. На основании критериев патологичности ГЛЖ были отобраны 5 (0,6%) спортсменов, которым проведено секвенирование кодирующих последовательностей 174 генов, ассоциированных с заболеваниями сердца. Критериями патологичности ГЛЖ стали: асимметричность (соотношение максимальной и минимальной толщины стенок ЛЖ  $> 1,3$ ), выраженность ( $\geq 15$  мм) и наличие нарушений реполяризации и/или патологических зубцов Q на ЭКГ.

ДНК из цельной периферической крови выделялась с помощью набора «QIAamp DNA Blood Mini Kit» (Qiagen) на автоматической станции «QIAcube» («Qiagen»). Концентрация ДНК измерялась на спектрофотометре «NanoVue Plus» («GE Healthcare») и составляла 30–50 нг/мкл. Подготовка библиотек для секвенирования осуществлялась с помощью «TruSight Cardio» («Illumina») по протоколу, рекомендованному производителем. Секвенирование проводилось на приборе «MiSeq» («Illumina»). Картирование прочтений на референсную последовательность генома человека (hg19) проводилось при помощи алгоритма BWA-MEM, качество исходных данных, выравнивания, обогащения и покрытия целевых регионов проверялось с помощью FastQC, BAMQC и NGSrich. Среднее покрытие составило 294x, доля корректно картированных прочтений – 99,6%, доля целевых регионов с покрытием выше 100x – 94,7%.

Поиск нуклеотидных вариаций выполнялся с помощью GATK HaplotypeCaller + UnifiedGenotyper, полученный объединенный VCF-файл обрабатывался с помощью программы SnpSift (глубина прочтения более 10) и аннотировался с помощью SnpEff (анализ всех транскриптов), ANNOVAR (анализ частот аллелей в gnomAD, 1000G и ESP6500, алгоритмы проверки функциональной значимости SIFT, PolyPhen2, MutationTaster, FATMM, CADD, DANN, Eigen), баз данных dbSNP, ClinVar, HGMD Professional 2017.2.

## Результаты

Из 791 спортсмена утолщение стенки ЛЖ  $> 12$  мм было выявлено у 15 (1,9%), из них только у 5 (0,6%) ГЛЖ соответствовала критерию

асимметричности (2 женщины и 3 мужчин). У 3 (0,4%) спортсменов максимальная толщина стенок (МТС) ЛЖ была  $\geq 15$  мм, все они также имели асимметричную ГЛЖ. Изменения на ЭКГ регистрировались у 3 из 15 спортсменов, также из числа тех, у кого была асимметричная ГЛЖ.

У спортсменки Ш. (тяжелая атлетика) МТС ЛЖ составила 20 мм (межжелудочковая перегородка (МЖП)), обструкции выходного отдела ЛЖ (ВОЛЖ) не было. На ЭКГ имелись глубокие (до 5 мм) отрицательные зубцы Т в отведениях V2-V4 и QS в отведениях II, aVF. У спортсменки С. (боулинг) МТС ЛЖ составила 15 мм (МЖП), обструкции ВОЛЖ не было. На ЭКГ комплексы QS в отведениях II, aVF и патологические зубцы Q в V3-V6. У спортсмена У. (дзюдо) МТС ЛЖ составила 15 мм (МЖП) с латентной обструкцией ВОЛЖ (максимальный градиент давления при стресс-ЭХОКГ 83 мм рт.ст.). На его ЭКГ не было каких-либо отклонений от нормы. Только индекс Соколова-Лайона = 37 мм, что, однако, является нормой для спортсменов. У спортсмена М. (дайвинг) МТС ЛЖ составила 13 мм в базальном сегменте МЖП. На его ЭКГ регистрировались сглаженные зубцы Т в отведениях II, aVF, V4-V6. У спортсмена В. (велосипедный спорт) МТС ЛЖ была 14 мм (МЖП) по данным ЭХОКГ. На ЭКГ изменений не было.

У 3-х из 5 спортсменов были выявлены патогенные варианты, ранее ассоциированные с ГКМП и другими КМП. Результат генетического анализа оказался положительным у обеих женщин (варианты с.1351+2T>C и p.Gln1233\*, приводящие к синтезу укороченного белка, в типичном для ГКМП гене MYBPC3) и спортсмена М. (вариант p.Arg644Cys в гене LMNA, ранее ассоциированный не только с ГКМП, но и с дилатационной и аритмогенной КМП). У спортсмена У. генетический анализ был отрицательным, но диагностирована тяжелая стойкая неконтролируемая АГ (по результатам СМАД: среднее АД днем 154/104, ночью 144/100 мм рт.ст., максимальное АД 179/119 мм рт.ст.). У спортсмена В., также с отрицательным генетическим анализом и нормальной ЭКГ, при последующем МРТ исследовании сердца ГЛЖ выявлено не было.

### Обсуждение

Важность установления причины ГЛЖ у спортсменов связана, прежде всего, с повышенным риском внезапной смерти во время физической нагрузки при ГКМП. Это заболевание характеризуется специфическими морфоло-

гическими изменениями в миокарде, называемыми феноменом disarray или разволокнения. Кардиомиоциты располагаются хаотично, увеличивается объем межклеточного пространства, что создает субстрат для фатальных желудочковых аритмий.

Распространенность ГЛЖ (1,9%) среди наших профессиональных спортсменов, если принять во внимание отсутствие черной расы, оказалась сопоставимой с данными других регистров (1,7% [5], 2-4% [6]). Клинический отбор ГЛЖ, подозрительной на патологическую, проводился с учетом данных предшествующих исследований. Так, выраженность ГЛЖ  $\geq 15$  мм крайне редко встречается при физиологической ГЛЖ и только у мужчин [5]. Асимметричная ГЛЖ и нарушения реполяризации и/или патологические зубцы Q на ЭКГ характерны для 70 и 94% больных с ГКМП, соответственно [7, 8]. Изменения на ЭКГ у больных с ГКМП появляются из-за феномена disarray и часто предшествуют ГЛЖ.

ГКМП – заболевание, характеризующееся утолщением стенок ЛЖ у взрослых  $\geq 15$  мм. Из 5-ти отобранных спортсменов у троих толщина стенок ЛЖ соответствовала клиническим критериям ГКМП, таким образом, у них были показания для проведения генетического исследования согласно действующим европейским рекомендациям [8]. В результате генетического исследования диагноз наследственной ГКМП подтвержден у 2 из 3 спортсменов с ГЛЖ  $\geq 15$  мм, что также соответствует предполагаемой «пользе» от генетического анализа при подозрении на ГКМП (70%) [9]. Спортсменка Ш. была дисквалифицирована из тяжелой атлетики, а спортсменка С. продолжила спортивную карьеру в боулинге. Различия в вопросе дисквалификации спортсменов с ГКМП основаны на интенсивности физических нагрузок.

Отсутствие изменений на ЭКГ значительно снижает вероятность наличия ГКМП, что и подтвердил отрицательный генетический анализ у спортсменов У. и В., у которых ЭКГ была в пределах нормы. Несмотря на то, что у спортсмена У. была асимметричная ГЛЖ с обструкцией ВОЛЖ, характерная для ГКМП, такая форма ГЛЖ, хотя и значительно реже, встречается и при гипертоническом сердце [10, 11]. Отрицательный генетический анализ не может на 100% исключить наследственное заболевание, однако, при отсутствии признаков ГКМП у родителей, с большой уверенностью можно говорить

о наличие у спортсмена У. гипертонического сердца, что не повлечет за собой дисквалификацию в отличии от ГКМП [12]. У спортсмена В. при проведении в последующем МРТ исследования сердца ГЛЖ выявлена не была, что подтверждает преимущества МРТ в оценке структур сердца перед ЭХОКГ.

Сложность диагностики наследственной ГКМП заключается в возраст-зависимой пенетрантности. Так, только 55% носителей патогенных мутаций имеют ГЛЖ в возрасте 10-29 лет [13]. Поэтому в дифференциально-диагностический поиск целесообразно включать спортсменов с ГЛЖ < 15мм, но соответствующей другим критериям патологичности (асимметрия и/или изменения на ЭКГ).

Ассиметричное утолщение базального сегмента МЖП (13 мм) с сопутствующими изменениями на ЭКГ послужили показаниями для генетического анализа у спортсмена М., в резуль-

тате которого найден вариант р.Arg644Cys в гене ламина, ранее ассоциированный с ГКМП и другими кардиомиопатиями [14-16]. Четких рекомендаций относительно возможности продолжения спортивной карьеры для таких носителей мутаций без явной клинической картины на сегодняшний день нет из-за недостаточности данных. Мы считаем возможным продолжение профессионального спорта в данном случае, но с проведением более частых УМО, принимая во внимание возможность развития кардиомиопатии.

### Выводы

Ассиметричную гипертрофию, развивающуюся на фоне высокой физической активности следует рассматривать, как патологию, требующую комплексной клинической оценки и обязательного проведения генетического анализа, проведение которого следует включить в программу медицинского обследования профессиональных спортсменов.

### Литература:

- Papadakis M., Carre F., Kervio G., Rawlins J. et al. The prevalence, distribution, and clinical outcomes of electrocardiographic repolarization patterns in male athletes of African/Afro-Caribbean origin. *Eur Heart J* 2011;32(18):2304-2313.
- Chandra N., Bastiaenen R., Papadakis M., Sharma S. Sudden cardiac death in young athletes: practical challenges and diagnostic dilemmas. *J Am Coll Cardiol* 2013;61(10):1027-1040.
- Berge H.M., Isern C.B., Berge E. Blood pressure and hypertension in athletes: a systematic review. *Br J Sports Med* 2015;0:1–10.
- Lakdawala N.K., Thune J.J., Maron B.J., Chirino A.L. et al. Electrocardiographic Features of Sarcomere Mutations Carriers With versus Without Clinically Overt Hypertrophic Cardiomyopathy. *Am J Cardiol* 2011; 108(11):1606–1613.
- Pelliccia A., Maron B.J., Spataro A., Proschan M.A. et al. The upper limit of physiologic cardiac hypertrophy in highly trained elite athletes. *N Engl J Med* 1991; 324: 295–301.
- Basavarajaiah S., Boraita A., Whyte G., Wilson M. et al. Ethnic differences in left ventricular remodeling in highly-trained athletes relevance to differentiating physiologic left ventricular hypertrophy from hypertrophic cardiomyopathy. *J Am Coll Cardiol* 2008; 51: 2256–2262.
- Baxi A.J., Restrepo C.S., Vargas D., Marmol-Velez A. et al. Hypertrophic Cardiomyopathy from A to Z: Genetics, Pathophysiology, Imaging, and Management. *RadioGraphics* 2016; 36: 335-354.
- Elliott P.M., Anastakis A., Borger M.A., Borggreffe M et al. 2014 ESC Guidelines on diagnosis and management of hypertrophic cardiomyopathy. *Eur Heart J*. 2014 Oct 14;35(39):2733-79. doi: 10.1093/eurheartj/ehu284.
- Thomas M.J., Battle R.W. Something old, something new. Using family history and genetic testing to diagnose and manage athletes with inherited cardiovascular disease. *Clin Sports Med* 2015; 34:517-537.
- Shimizu M., Sugihara N., Shimizu K., Yoshio H. et al. Asymmetrical septal hypertrophy in patients with hypertension: a type of hypertensive left ventricular hypertrophy or hypertrophic cardiomyopathy combined with hypertension? *Clin Cardiol* 1993;16(1):41-6.
- Kobayashi S., Sakai Y., Taguchi I., Utsunomiya H. et al. Causes of an increased pressure gradient through the left ventricular outflow tract: a West Coast experience. *J Echocardiogr* 2017 Sep 18. doi: 10.1007/s12574-017-0352-6.
- Maron B.J., Udelson J.E., Bonow R.O., Nishimura R.A. et al. Eligibility and Disqualification Recommendations for Competitive Athletes With Cardiovascular Abnormalities: Task Force 3: Hypertrophic Cardiomyopathy, Arrhythmogenic Right Ventricular Cardiomyopathy and Other Cardiomyopathies, and Myocarditis. A Scientific Statement From the American Heart Association and American College of Cardiology. *Circulation*. 2015 Dec 1;132(22):e273-80. doi: 10.1161/CIR.0000000000000239
- Charron P., Carrier L., Dubourg O., Tesson F. et al. Penetrance of familial hypertrophic cardiomyopathy. *Genet Couns* 1997; 8(2): 107-14.

14. Quarta G., Syrris P., Ashworth M., Jenkins S. et al. Mutations in the Lamin A/C gene mimic arrhythmogenic right ventricular cardiomyopathy. *EHJ* 2012; 33: 1128-36.

15. Genschel J., Bochow B., Kuepferling S., Ewert R. et al. A R644C mutation within lamin A extends the

mutations causing dilated cardiomyopathy. *Hum Mutat.* 2001 Feb;17(2):154.

16. Mercuri E., Brown S., Nihoyannopoulos P., Poulton J. et al. Extreme variability of skeletal and cardiac muscle involvement in patients with mutations in exon 11 of the lamin a/c gene. *Muscle Nerve* 2005; 31(5): 602-9.

*Информация об авторах:*

*Чумакова Ольга Сергеевна, к.м.н., доцент кафедры терапии, кардиологии и функциональной диагностики с курсом нефрологии ФГБУ ДПО «ЦГМА» УДП РФ; ведущий научный сотрудник лаборатории генетики ФГБУ ФНКЦ ФМБА России; врач-кардиолог ГБУЗ ГКБ №17 ДЗМ chumakovaolga@bk.ru; +7 (903)221-59-10*

*Исаева Марина Юрьевна, к.м.н., врач-кардиолог клинико-диагностического центра ФГБУ ФНКЦ ФМБА России maris\_07@mail.ru; +7 (916)678-92-64*

*Абушенко Марина Ивановна, врач-кардиолог клинико-диагностического центра ФГБУ ФНКЦ ФМБА России marina-abushenko@mail.ru; +7 (926)695-49-53*

*Воробьева Марина Валентиновна, врач-кардиолог клинико-диагностического центра ФГБУ ФНКЦ ФМБА России llyashenko-mv@mail.ru; +7 (916)704-85-96*

*Гасанова Лейла Эльбрусовна, врач-терапевт клинико-диагностического центра ФГБУ ФНКЦ ФМБА России +7 926 166 01 30*

*Гусейнова Рузана Рафиковна, врач-кардиолог клинико-диагностического центра ФГБУ ФНКЦ ФМБА России ms.ruzanka@inbox.ru; +7 926 157 53 23*

*Спешилов Глеб Игоревич, руководитель генетической лаборатории ReadSense/ChromaSpark (РидСенс) g.speshilov@chromaspark.com; +7 (926)052-04-67*

*Никитин Алексей Георгиевич, к.б.н., заведующий лабораторией генетики ФГБУ ФНКЦ ФМБА России avialn@gmail.com; +7 (926)217-71-72*

*Аверьянов Александр Вячеславович, доктор медицинских наук, профессор, директор ФГБУ НИИ Пульмонологии ФМБА России Тел.: +7 (495) 465-52-64; e-mail: pulmo\_fmba@mail.ru*

*Затейщиков Дмитрий Александрович, д.м.н., профессор, руководитель первичного сосудистого отделения ГБУЗ ГКБ №51 ДЗМ; заведующий кафедрой терапии, кардиологии и функциональной диагностики с курсом нефрологии ФГБУ ДПО «ЦГМА» УДП РФ; ведущий научный сотрудник лаборатории генетики ФГБУ ФНКЦ ФМБА России, e-mail: dz@bk.ru; +7(903)799-28-71*